

## KOKKUVÕTE

Antud bakalaureuse töös uuritakse võimalust vähendada puhvervalgu ekspressiooni üherakumudelil. Puhvervalk ei oma mudelis otsest bioloogilist funktsiooni, vaid on ribosoomidele ja valke tootvale ensüümaparatuurile täiendavaks koormaks. Puhvervalk on mudelisse lisatud, et kompenseerida rakutsükli mudelist tulenevat rakkude suuruse ning isepaljunemiseks vajaliku ensüümaparatuuri suuruse erinevusi. Puhvervalk on SCM mudelites oluline kontseptsioon, mille kaudu saab hinnata rakkude potentsiaali toota kasulikkeprodukte (madalmolekulaarseid ühendeid, rekombinantseid valke, jne.).

Referentsmudelil on puhvervalgu keskmine kogus kuivmassi kohta 34,8%. Mudelarvutustega demonstreeritakse, et madalamolekulaarsete kõrvalproduktide tootmine on üks võimalus asendada puhvervalgu ekspressiooni. Teine võimalus on kui metabolismi voogudemuster sisaldab endas futiilseid tsükleid. Mõlemal juhul on mudelis ekspresseeritud täiendav kogus ensümaatilist aparatuuri, mis vähendab rakus puhvervalgu kogust, kuid ei ole rakkude pooldumiseks iseenesest vajalik. Seetõttu rakkude kasvu seisukohalt on tegemist ebaefektiivse metaboolse voogudemustriga.

Kõrvalproduktidest on suurim puhvervalgu asendamine tootes isoleutsiini. Efekt saavutatakse, sest isoleutsiini tootmiseks võrreldes *wild type* arvutusega on kasutusele võetud alternatiivsed metaboolsed rajad, millele jäävad ensüümid on kas aeglased või väga suured või mõlemat korraga. Seetõttu on voogude kasvuga märgatavalt kasvanud vastavate radade eest vastutavate ensüümide osakaal raku kuivmassis.

Lisaks on võimalik vähendada puhvervalgu ekspressiooni läbi atsetaadi,alaniini, valiini ja CO<sub>2</sub> tootmise. Ka nende ainete tootmisega on seotud suured ja aeglased ensüümid. Alaniini, valiini ja CO<sub>2</sub> tootmise mehhanism on pisut teine. Kui isoleutsiini ja atsetaadi korral leiab mudel alternatiivse metaboolse mustri, mis kasutab rohkem ensümaatilist ressursi, kuid ei

tõsta glükoosi tarbimist. Kuna substraadi tarbimine ei muutu, siis on biomassi saagis ligilähedane võrdlusarvutusele. Alaniini, valiini ja CO<sub>2</sub> tootmise korral on kõrvalprodukti tootmine seotud tõusnud substraadi tarbimisega, millega kaasneb madalam biomassi saagis.

Kui kõrvalproduktide suurenenud tootmise arvelt väheneb puhvervalgu osakaal rakus, kuna võetakse rakumassis suuremat ensüümaparatuuri nõudvad rajad, millega võib kaasneda biomassi produktiivsuse langus. Kui kõrvalprodukte muuta ei saa, peab puhvervalgu vähendamiseks kasutama futiilseid tsükleid. FBA meetodi matemaatikast ja SCM mudelite eripärast tulenevalt eelistab mudel tekitada minimaalsed futiilsed tsükliid mõnda kahesuunalise reaktsiooni kohale.

Arvutusskeemiga, mis keelab kahesuunalistel voogudel olla aktiivne korraga mõlemas suunas, on võimalik leida tegelikke kohti metabolismi võrgustikus, kus saavad tekkida futiilsed tsükliid. *Escherichia coli* SCM mudelis näiteks kuuest reaktsioonist koosnev futiilne tsükkel, mis ühendab fumaraati, malaati, oksaloatsetaati, glutamaati, aspartaati, 2-oksoglutaraati ja kofaktorit NADP<sup>+</sup>. Tsükkel on täielikus tasakaalus ehk tsükliid summaarses reaktsioonis produktide kogus ühtib substraadi omadega.

Antud töö tulemusel leitakse, et mudeli edasiseks arendamiseks on kaks suunda: leitud kõrvalproduktide abil asendada puhverparameetrit ning leida moodus voogude fikseerimiseks erinevatel kasvukiirustel ja leida seejärel futiilsed tsükliid.